Münster.1931.No 47 Med Diss.

Aus dem Hygienischen Institut der Westf. Wilhelms-Universität Münster i. W.
Direktor: Prof. Dr. K. W. Jötten

Ueber die Verwendungsmöglichkeit von Ozon in der zahnärztlichen Tätigkeit.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. Westf.

vorgelegt von

Otto Reinhardt
approb. Zahnarzt
aus Essen-Ruhr

*

1931

Buchdruckerei Ferdinand Althoff, Münster i. Westf.

Dekan: Herr Professor Dr. Vogt

Referent: Herr Professor Dr. K. W. Jötten

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet!

Bei der außerordentlich hohen chemischen Aktivität, die das Ozon, eine bekannte allotrope Modifikation des Sauerstoffs, kennzeichnet, ist es kein Wunder, daß schon frühzeitig Bemühungen von hygienischer Seite darauf hinausliefen, diese Kräfte für die Abtötung von Krankheitserregern auszunutzen. Nachdem die Firma Siemens & Halske damit begonnen hatte, Apparate zu bauen, die es erlaubten, Ozon in größeren Mengen herzustellen, wurden unter anderen auch von Ohlmüller 1) Untersuchungen über die Einwirkung des Ozons auf Bakterien angestellt, die zu dem Ergebnis führten, daß die Abtötung der Keime durch Ozon eigentlich nur für die in Wasser suspendierten Keime in Frage komme. Inzwischen hatte die genannte Firma für die Zwecke der Trinkwasserreinigung einen besonderen Versuchsapparat gebaut, an dem man 2) Untersuchungen mit günstigen Resultaten anstellte, und auf Grund der gesammelten Erfahrungen ging die Firma Siemens & Halske dazu über, eine größere Versuchsanlage zu Martinikenfelde zu bauen. Neben anderen stellten Ohlmüller und Prall an dieser Anlage eingehende Versuche an, die sie zu der Ueberzeugung brachten, **daß Ozon sehr gut für die Entkeimung des Trinkwassers** geeignet sei. Schüder und Proskauer 3) bestätigten die Untersuchungen Ohlmüllers und hielten vor jeder geplanten Neuanlage Vorversuche zur Feststellung der erforderlichen Ozonkonzentration, Oxydationsgröße des Wassers und Durchgangsgeschwindigkeit für Ozonluft und Wasser für unumgänglich, wodurch sie die Rentabilität jeder Anlage auch vorher mit großer Genauigkeit sicherten.

Bald war es so weit, daß man auf Grund dieser abschließenden Untersuchungen zur technisch hygienischen Auswertung übergehen konnte. In der Folgezeit entstanden die Großbetriebe in Wiesbaden-Schierstein und Paderborn 4) unter Anregung der von Siemens & Halske konstruierten Ozonisatoren, die gegenüber den älteren, zentralen Reinigungsverfahren eine weitsichere Entkeimung des Wassers erzielten.

Allerdings hat das Ozonverfahren die älteren Reinigungsverfahren nicht verdrängen können und gerade nicht diejenigen, welche mit einer hohen Oxydationsgröße des

Wassers zu rechnen haben. Wie Ohlmühler in einigen Versuchen feststellte und auch später 5) bei der praktischen Anwendung in der Trinkwasserversorgung bestätigt fand, beeinträchtigte die Menge sonstiger verunreinigender Stoffe im Wasser die Ozonwirkung, da zuerst die verunreinigenden Bestandteile des Wassers und an zweiter Stelle die Keime oxydiert werden. Hiermit ist leider eine gewisse Einschränkung der Ozonwirkung gegeben, die von den leblosen oxydablen Stoffen wie von einem Schutzwall umgeben sind. Diese Einschränkung müßte sich noch mehr geltend machen bei Auswertung der keimtötenden Wirkung des Ozons, zum Beispiel für die Reinigung der Luft 6), da nur dann eine ausgiebige Wirkung hier entfaltet werden könnte, wenn die Mikroorganismen von genügend Feuchtigkeit umgeben wären und Ozon in konzentrierten Mengen angewandt würde, die aber bekanntlich eine stark reizende Wirkung auf die Kehlkopfschleimhaut ausüben. Deshalb ist man von der Ozonisierung der Luft im größeren Maßstabe wieder abgekommen, wenigstens zur Abtötung der Bakterien. Wo die Ozonierung heute Verwendung findet, da handelt es sich nur noch um die Anwendung geringerer Mengen zu desodierenden Zwecken.

Trotz dieser atmungsbehindernden Wirkung hat man sich nicht davon abhalten lassen, sich des Ozons an örtlich begrenzten Schleimhautstellen oder an Zähnen zur Abtötung von Keimen an begrenzter Stelle zu bedienen, obwohl noch bestimmte Versuche fehlten, die die ausreichende Wirkung kurzfristiger erträglicher Ozonströme für die Zwecke des Zahnarztes feststellten.

Dem Wunsche nach einer Prüfung unter diesen Bedingungen, d. h. für die Zwecke des Zahnarztes, kamen in letzter Zeit gewisse **Kleinapparate** der Firma Siemens & Halske sehr zustatten, da dieselben es ermöglichten, bei Unterbringung auf kleinen Raum und bei sicherer und leichter Handhabung kleine und kleinste Ozonmengen auf bestimmte Stellen wirken zu lassen.

Der Reihenfolge nach geordnet bestehen diese Apparate aus dem Drucklufterzeuger, Trockenapparat und dem Ozonisator mit dem dazugehörigen Transformator und Widerstand. Man entnimmt praktisch die Preßluft kleinen Drucklufterzeugern oder Preßluftflaschen.

Für deratige Versuche wurde die Preßluft durch eine Wasserstrahlluftpumpe erzeugt und zunächst in einem Trok-

kenapparat getrocknet, der aus zwei U-förmiggebogenen Röhren bestand, wovon die eine mit Chlorkalzium und die zweite mit Bimsstein und wenig Schwefelsäure angefüllt war. Sodann wurde die getrocknete Preßluft in drei hintereinandergeschaltete Ozonröhren des Siemens-Laboratoriumsozonisators geleitet, in denen die Ozonentwicklung erfolgte. Der hierzu erforderliche gewöhnliche Wechselstrom, dessen Stärke man mit Hilfe des eingeschalteten Widerstandes noch besonders regeln konnte, wurde mittels Transformators in einen Strom von 8000 Volt Spannung umgeformt. Das in den Röhren entwickelte Ozon verließ die Apparatur druch eine Glasröhre, an die die verschiedensten Desinfektionsgefäße etc. angeschlossen werden konnten.

Einige Versuche dienten zunächst dazu, die Leistungsfähigkeit des Apparates zu prüfen. Aus diesen war ersichtlich, daß unter normalen Verhältnissen die Aenderung der Stromstärke nicht von so großer Bedeutung war wie die Durchströmungsgeschwindigkeit der Luft. Je mehr Luft in einer Minute den Apparat passierte, desto geringer war der Ozongehalt im Liter. Da konstante Verhältnisse sich mit dem benutzten Drucklufterzeuger nicht genau erzielen ließen, so mußte die Ozonmenge vor oder nach jedem Versuche noch einmal ermittelt werden. Sie ergab sich durch Bestimmung der Jodmenge, welche durch Ozon in einer wässerigen Lösung von Jodkalium freigemacht wurde. Es zeigte sich, daß bei unserer Versuchsanordnung durchschnittlich mit einem Ozongehalt von **0,0012 g pro Liter** durchstreichender Luft gerechnet werden konnte.

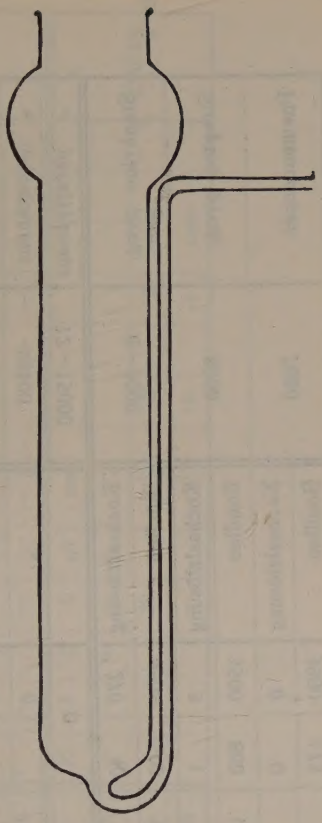
Bevor nun an die eigentliche Prüfung bezüglich der Anwendungsmöglichkeit solcher Kleinapparate in der Zahnheilkunde für die Entkeimung von Schleimhautstellen, Zahnkanälen usw. herangegangen wurde, war es unumgänglich nötig, zunächst die Wirkungsbreite des Apparates genau festzulegen. Dies geschah unter wechselnden Bedingungen in vier Versuchsanordnungen: **Erstens** perlte das Gas durch Flüssigkeiten, in welchen Bakterien suspendiert waren, **zweitens** wurden an der Oberfläche beimpfte Nährböden dem Gasstrom ausgesetzt, **drittens** wurden Keime mit bestimmten organischen Flüssigkeiten überschichtet, um das Durchdringungsvermögen oder die Tiefenwirkung zu prüfen und **viertens** sollte das Gas auf infizierte Zahnwurzelkanäle einwirken.

1. Versuchsanordnung.

Ohlmüller kam in seinen Versuchen über die Einwirkung des Ozons auf Bakterien zu dem Ergebnis, daß Ozon nur solche Keime in praktisch bedeutsamer Weise zerstört, die in Wasser suspendiert sind und zwar umso schneller und sicherer, je geringer die Oxydationsgröße des Wassers ist. In steriles, destilliertes Wasser brachte er Milzbrandsporen und beobachtete ein Nachlassen der Ozonwirkung bei Zusatz von steigenden Mengen Hammelblutserum 7). Seine Untersuchungen und die von Schüder und Proskauer an der Versuchsanlage zu Martinikenfelde zeigten günstige Ergebnisse nur bei Verwendung pathogener Keime, während einzelne saprophytäre Keime wie z. B. Heubacillen lebend den Sterilisationsturm verließen 8).

Im folgenden sei ein von Schüder und Proskauer angestellter Versuch wiedergegeben. Sie ließen das infizierte Wasser (Typhus) durch den Kiesturm der oben erwähnten Versuchsanlage von oben nach unten sickern, während die Ozonluft den entgegengesetzten Weg nahm. Bei einer Ozonkonzentration von 3,4—4 g pro cbm Luft, wovon 25 cbm in 1 Stunde den Turm passierten, wiesen sie in 78 Kolben zu je 2 Liter des behandelten Wassers, das mit einer Geschwindigkeit von 8,5 Minuten pro cbm durch den Turm sickerte, noch Keime nach. Das infizierte Wasser enthielt vorher rund 630 000 Keime im ccm. Nach einer vorgenommenen Verbesserung ihres Verfahrens konnten sie keine Keime mehr nachweisen.

Hiernach sterilisierten 1,5 g Ozon in 417 Liter Luft in 1 Minute 117 Liter des infizierten Wassers.



Als Keimsuspensionsmittel dienten bei unserer ersten Versuchsanordnung sterile physiologische Kochsalzlösung und gewöhnliche Nährbouillon. Wir beimpften je ein Röhrchen beider Suspensionsmittel mit gleicher Keimzahl und brachten darauf 2 ccm der Kochsalz- bzw. Bouillonkeimsuspension in große Reagenzgläser, die am Boden eingeschmolzene Glasröhrchen (siehe Abb) besassen, mit denen sie so an den Ozonisator angeschlossen wurden, daß die Ozonluft von unten in die Reagenzgläser einströmen konnte. In Abständen von je 0,5 Minuten wurde die Gaszufuhr unterbunden, um ebenso oft 0,04 ccm von den 2 ccm aus dem Reagenzglas zu entnehmen und auf einer Platte auszustreichen. Diese Versuche ließen einen Unterschied in der Widerstandsfähigkeit einiger gramfreier Bakterien, wie

1) Bac. prodigiosus,
2) Bac. coli } Tab. 1.

und anderer gramfreier Bakterien, die nur in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt waren, wie

3) Bac. proteus,
4) Bac. aerogenes,
5) Bac. fluorescens,
6) Bac. pyocyaneus,
7) Bac. paratyphosus } Tab. 1.

gegenüber den gramfesten, wie

1) Staphylococcus pyogenes,
2) Streptococcus pyogenes } Tab. 2.

Tabelle 1—2

Keimart	Kontrollzahl = Keimzahl in d entnommenen Probe (0,04 ccm)	Die Keime befanden sich in:	In den Proben waren Keime enthalten nach: 0,5'	1'	1,5'	2'	2,5'	3'	g Ozon in einem Liter Luft
Tab. 1									
Bac. prodipiosus	9600	Kochsalzlösung	15	1	0	0	0	0	0,00100
		Bouillon	5500	2200	120	0	0	0	
Bac. coli	24000	Kochsalzlösung	5	0	0	0	0	0	0,00168
		Bouillon	17000	8000	500	15	0	0	
Bac. protens	20000	Kochsalzlösung			0				0,00114
„ aërogenes	14000	„		0					
„ fluorescens	10000	„	0						
„ pyocyaneus	10500	„	0						
„ paratyphosus	12—15000	„	0						
Tab. 2									
Staphyloc. pyog.	8—9000	Kochsalzlösung	270	40	2	0	0	0	0,00114
		Bouillon	4800	3500	300	80	4	0	
Streptoc. pyog.	8000	Kochsalzlösung	3	1	0	0	0	0	0,0012
		Bouillon	3500	800	120	0	0	0	
Pneumococcen	7000	Kochsalzlösung	0	0	0	0	0	0	0,00108
		Bouillon	3900	175	0	0	0	0	

Tabelle 3.

Erklärung „ ‾ ‾ " bedeutet Wachstum in Bouillon
„ = " bedeutet kein Wachstum in Bouillon

Keimart	Kontrollzahl (Keimzahl in d. entnommenen Probe 0,04 ccm)	Die Keime befanden sich in	Die Proben wurden überimpft auf:	Auf den Platten gingen Keime an nach bezw. in Bouillon zeigte sich nach:													g Ozon im Liter Luft
				0,5'	1'	1,5'	2'	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	11'	12'	
Milzbrand	300	Kochsalzlös.	Platten		5		0	0	0	usw							0,00100
			Bouillon		—		—	=	=	=	usw						
		Bouillon	Platten		160		55	26		10	4	1	0	0	usw		
			Bouillon		—		—	—	—	—	—	—	—	—	=	=	
Heubazillen	200	Kochsalzlös.	Platten	35	3	0	0	0	usw								0,00168
			Bouillon	—	—	=	=	=	—								
		Bouillon	Platten				20		5		0		0	usw.			
			Bouillon				—		—		=		=	usw			

abgesehen von den sehr empfindlichen gramfesten Keimen der oberen Luftwege, wie

3) Pneumococcus Tab. 2.

dem Ozon gegenüber erkennen.

Aus den Aufschwemmungen alter

Milzbrand- und Heubacillenkulturen } Tab. 3.

wurden die Proben zu Platten verarbeitet und daneben noch auf Bouillonröhrchen übertragen. Nach einer bestimmten Zeit der Ozoneinwirkung (s. Tab. 3) blieb die Bouillon auch nach mehrtägigem Bebrüten stets klar. Aus den in Bouillon gebrachten Proben einer noch sporenreicheren Milzbrandaufschwemmung (1 Oese auf 5 ccm) in Kochsalzlösung, keimten nach 15 Minuten langer Gaseinwirkung keine Sporen mehr aus. Dieselbe Anzahl Sporen in Bouillon suspendiert, erforderte eine viermal längere Zeit bis auch hier aus den in frische Bouillon gebrachten Proben nichts mehr anging. (s. Tab. 3).

Der Keimgehalt der zu diesen Versuchen benutzten Aufschwemmungen war bei den nicht sporenbildenden 200 000 — 700 000 und 5000 — 7500 pro ccm bei den sporenbildenden Keimen.

Aus den Tabellen ist ersichtlich, daß die sporenfreien Keime, die man nach 0,5 — 1,5 Minuten aus der Kochsalzsuspension entnahm, nicht mehr angingen; ebenso keimfrei zeigten sich die Proben, welche man nach 1,5 — 3 Minuten aus der Bouillonsuspension entnahm und erst nach 6 bzw. 11 Minuten gingen die Sporen aus den entnommenen Proben nicht mehr an. Dabei lieferte der Apparat durchschnittlich 0,0012 g Ozon pro Liter in 1 Minute.

Alle hier verwendeten Keime und Sporen zeigten in Kochsalzlösung suspendiert schon bedeutend früher als die in Bouillon kein Wachstum mehr. Je nach Art und Zahl der Keime im ccm verzögerte sich die Keimabtötung in der Bouillon im Vergleich zu der gleich starken Kochsalzkeimsuspension bei den sporenfreien Keimen um 1 —2 Minuten, bei den Sporen sogar um 5 — 8 Minuten. Der Unterschied erklärt sich aus dem reicheren Gehalt der Bouillon an leblosen organischen Stoffen. In destilliertem, dem reinsten Wasser geht die Abtötung der Keime am schnellsten vonstatten 9).

2. Versuchsanordnung.

Bisher kam das Gas auf kleinem Raume mit den Keimen in innige Berührung. Wenn es nun von außen her zum Beispiel auf Schleimhautstellen zur Anwendung kommen sollte, würde seine Wirkungsbreite von dem Zustand der Unterlage, auf der sich die Keime befinden und von der Absorptionsgröße des Ozons an der Fläche abhängen. Um zunächst einmal die Oberflächenwirkung zu prüfen, sind Versuche mit folgenden gramfreien Bakterien

1) Bac. paratyphosus,
2) Bac. pyocyaneus,
3) Bac. prodigiosus,
4) Bac. fluorescens,
5. Bac. proteus,
6) Bac. coli,
7. Meningococcus

} Tab. 4

und mit gramfesten Bakterien

1) Staphylococcus pyogenes,
2) Streptococcus pyogenes,
3. Pneumococcus

} Tab. 4

angestellt worden. Von den Keimsuspensionen der genannten Bakterien und alter Milzbrand- und Heubacillenkulturen (Tab. 4) wurden immer 0,04 ccm auf Plattennährböden ausgestrichen, worauf dann das Gas in ansteigender Zeitdauer — bei der ersten Platte 1 Minute, bei der zweiten Platte 2 Minuten lang usw. — durch eine Glasröhre (∅ 0,25 cm) strömte, deren Mündung dicht über dem Mittelpunkt der Platte angebracht war. Ein Papierzylinder, der jedes Mal über den Rand der Platte gestülpt wurde, verhinderte die geringe Ablenkung des Gasstromes durch den Zimmerluftzug. Die nach Einwirkung des Ozons noch lebend gebliebenen Keime kamen innerhalb 24 — 48 Stunden im Brutschrank zur Entwicklung und wurden zahlenmäßig nach ihrem Vorhandensein in genau begrenzter Umgebung vom Zentrum der Platte aus bestimmt. (Die Platte wurde hierzu in 5 konzentrische Kreise eingeteilt). Als Kontrollzahl galt die Anzahl der Kolonien, die innerhalb des 5. Kreises (∅ 6,5 cm) der Kontrollplatte ausgewachsen waren (Kol. 2, Tab. 4).

Gewisse Differenzen bestanden auch hier wieder zwischen den einzelnen Bakterienarten. So wurden in 3 — 5 Minuten von den sporenfreien Keimen 7000 — 24 000 inner-

Tabelle 4

Keimart	Kontrollplatte: Zahl der Keime innerhalb des 5. Kreises Durchmesser = 6,5 cm	Von den Keimen innerhalb des 5. Kreises blieben übrig nach:							g Ozon pro 1 Liter Luft
		1'	2'	3'	4'	4,5'	5'	6'	
Bac. paratyphosus	12000	134	113	45	—	3	0	—	0,00108
„ pyocyaneus	10400	16	8	4	0	—	—	—	0,00108
„ prodigiosus	12800	5	3	0	—	—	—	—	0,00108
„ fluorescens	9600	52	8	0	—	—	—	—	0,00108
„ proteus	14400	—	132	105	57	6	0	—	0,00100
„ coli	24000	—	—	270	8	0	—	—	0,00168
Meningococcen	8800	74	45	22	4	0	—	—	0,00100
Staphyloc. pyog.	7620	69	58	18	10	0	—	—	0,00108
Streptoc pyog	7600	283	191	100	22	0	—	—	0,00114
Pneumococcen	7000	30 =	6 =	0 =	Kolonien auf der Platte				0,00114
Milzbrand	1040	278	169	—	14	—	0	—	0,00100
Heubazillen	2000	236	107	—	96	—	10	2	0,00100

Angabe der Durchströmungsgeschwindigkeit der Luft mit der Ozonmenge im Liter Luft.
In 40“ durchströmte 1 l Luft den Apparat mit dem Gehalt von rund 0,00096 g Ozon.
„ 50“ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 0,00100 „ „
„ 60“ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 0,00108 „ „
„ 70“ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 0,00114 „ „
„ 80“ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 0,00120 „ „
„ 100“ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 0,00216 „ „

halb des 5. Kreises abgetötet. Auf Platten ausgestrichene Milzbrand- und Heubacillen alter Kulturen, die nachweislich zahlreich Sporen enthielten, gingen bei einer Keimzahl von 1000 — 2000 nach 5 — 7 minutenlanger Belüftung mit Ozonluft (Konzentration s. Tab. 4 letzte Kolonne) nicht mehr an.

Wenn hier diese geringe Keimzahl erst in 3 — 5, bzw. 5 — 7 Minuten vernichtet wurde, so lag das daran, daß der geringe Feuchtigkeitsgehalt der üblichen festen Nährböden durch das minutenlange Aufblasen des Gases sich oberflächlich noch mehr verringerte, demzufolge die Keime trockener und widerstandsfähiger dem Ozon gegenüber wurden und sich die Absorption des Gases an der Fläche verminderte. Daß auf allen Platten die größere Keimzahl sich immer an den peripheren Stellen vorfand, spricht für eine abnehmende Ozonkonzentration der Luft nach der Peripherie zu. Je weiter die Keime von der Ausströmungsöffnung des Gasrohres entfernt waren, umso später wurden sie vernichtet.

In einigen weiteren Versuchen fanden anstelle der Ozonplatten Glaszylinder Verwendung, die im Innern mit Nähragar überzogen und mit den verschiedenen Keimen beimpft waren. Durch diese Zylinder wurde der Ozonstrom geleitet, der dieselben Abtötungsergebnisse bedingte wie in der ersten Versuchsserie. Es zeigte sich nämlich, daß infolge der geringeren Wirkung der ozonhaltigen Luft an dem äußersten Austrittsende des Glaszylinders die Keime länger erhalten blieben, im ganzen aber ähnlich schnell vernichtet wurden wie die entsprechenden Keime auf Platten in der vorigen Versuchsreihe. Bezüglich des Effektes auf die Gesamtfläche ist also **die Flächenwirkung des Ozons nicht so bedeutend und so gleichmäßig wie die Ozonwirkung in den Keimsuspensionen.**

3. Versuchsanordnung.

In einem bakteriell entzündeten, offen an der Haut oder Schleimhaut liegenden Gewebe sind die Keime, welche sich an der Oberfläche und in den tieferen Schichten befinden, von serösen, organischen Flüssigkeiten und zelligen Bestandteilen umgeben, die für Ozon ein großes Hindernis auf seinem Wege zu den Keimen bilden. Hiermit mußte bei den Versuchen bzgl. der Prüfung der Tiefenwirkung des Ozons gerechnet und die Annäherung an natürliche Verhältnisse auch in den Versuchen erstrebt werden.

Mit ausgeglühter Platinöse wurden Keimmengen von der Größe eines halben Stecknadelkopfes auf sterilisierten Glasscheibchen verrieben und von einem Tropfen Hühnereiweiß, Blutserum, Sputum oder Kochsalzlösung überschichtet. Dabei trat von vorneherein eine Schwierigkeit insofern auf, als der Tropfen u. U. vor oder nach Ablauf von 2 Minuten schon eintrocknete. Die hierdurch bedingte ungünstige Beeinflussung der Ozonwirkung konnte dadurch umgangen werden, daß man die aufgetragenen Keime immer wieder mit einem Tropfen überschichtete, was praktisch aber nur für Kochsalzlösung und Speichel in Betracht kam. Von den Resultaten nach 24 stündigem Bebrüten der Ausstriche, die mit den Glasscheibchen in Bouillon gebracht wurden, seien hier die Abtötungszeiten wiedergegeben.

Staphylococcen zeigten unter Kochsalzlösung bei 2'
Speichel „ 7'
Blutserum „ 12'
Hühnereiweiß „ 14—15'
kein Wachstum mehr. (Der Vollständigkeit halber sind auch hier die Versuche mit Blutserum und Hühnereiweiß angereiht, obwohl man bei einer nur einmaligen Ueberschichtung mit diesen Stoffen eine schnellere Abtötung erzielte). Sporenhaltige **Milzbrandbazillen,** in geringerer Menge auf den Gläschen verrieben, zeigten unter

Kochsalzlösung bei 3—4'
Speichel „ 9—10'
Blutserum „ 13—14'
Hühnereiweiß „ 17'
kein Wachstum mehr.

Auch beim **Zahnbelag,** der in etwas größerer Menge ausgestrichen wurde, waren die Ergebnisse ähnlich.

Unter Kochsalzlösung war nach 2—3',
Speichel „ „ 8',
Blutserum „ „ 13',
Hühnereiweiß „ „ 15'
langer Einwirkungszeit nach Ueberimpfung in Bouillon nichts mehr zum Auswachsen zu bringen.

Eine Abtötung der Keime bis zur Eintrocknung des ersten Tropfens war bei diesen Keimmengen mehr oder weniger nur bei Ueberschichtung mit Kochsalzlösung gewährleistet. Speichel beeinflußte Ozon in seiner Wirkung nicht besonders stark, das soll heißen, daß diejenigen

Keime, welche ohne jegliche Ueberschichtung dem Gasstrom ausgesetzt waren, ebensoschnell vernichtet wurden wie andere, die man wiederholt mit Speicheltropfen benetzte. **Es wirkt also Speichel,** der infolge seiner starken Verbreitung in der Mundhöhle vom Zahnarzt besonders berücksichtigt werden muß, **noch relativ günstig. Eiweißreichere** Substanzen, wie Blutserum, besonders aber Hühnereiweiß **hemmen die Ozonwirkung** in hohem Maße. So riefen Staphylococcen, die nur mit einem Tropfen Hühnereiweiß überschichtet und 7 Minuten lang mit Ozon beblasen waren, nach Ueberimpfung noch eine Trübung in Bouillon hervor, während bei fehlender Ueberschichtung nach 7 Minuten Ozoneinwirkung jedes Wachstum ausblieb.

Es sei noch einmal besonders auf die ungünstige Beeinflussung der Ozonwirkung durch die Trockenheit der Keime hingewiesen. Letztere, der in der Entkeimung mittels Ozon eine Beachtung geschenkt werden muß, war in dem Falle der vorigen Versuche am größten, wenn das Keimmaterial überhaupt nicht mit den genannten Stoffen überschichtet wurde, und sie nahm im Laufe der Behandlung noch mehr zu. Wenn es galt, die Trockenheit zu beheben, so war Kochsalzlösung (physiol.) gut dazu geeignet. Die günstige Beeinflussung der Ozonwirkung durch Kochsalzlösung im Vergleich zu einer Behandlung, die jedes Hilfsmittel entbehrt, geht aus dem folgenden Versuch deutlich hervor. Etwas mehr als in den obigen Versuchen ausgestrichener Zahnbelag zeigte

ohne Ueberschichtung nach 5' noch starke Trübung in Bouillon,

nach Ueberschichtung mit 1 Tropfen Kochsalzlösung, nach 5' geringe Trübung,

nach Ueberschichtung mit einem 2. Tropfen, nachdem der 1. Tropfen eingetrocknet war, nach 4' keine Trübung mehr in Bouillon.

Organische Substanzen und allzugroße Trockenheit der Keime oder ihrer Umgebung setzen also die Ozonwirkung herab.

Wie aus dem letzten Versuch weiter noch hervorgeht, kann man durch wiederholtes Anfeuchten der zu behandelnden Objekte, zum Beispiel mit physiologischer Kochsalzlösung die Wirkung der ozonisierten Luft unterstützen. Das gilt sowohl für normale Schleimhaut, die sehr schnell

während der Behandlung (nach 0,5') eintrocknet, als auch für solche Stellen, an denen sich eiweißreiche Stoffe angesammelt haben.

Die obigen Versuche wurden experimentell noch in der Richtung erweitert, daß wir bestimmte Keime auf Platten ausstrichen und mit einer Agarschicht überdeckten. Hierbei sollte vor allem die Tiefenwirkung des Gases an feinsten kolloidalen Stoffen geprüft werden.

Auf Nährbödenplatten strichen wir je einen Tropfen einer Pneumococcenaufschwemmung (ungefähr 10 000 Keime pro Platte) aus und gossen darüber 8 ccm Aszitesagar. Nach dem Erkalten strömte das Gas auf eine bestimmte Stelle der Platte, an der die Keime im Umkreis von 1/4 cm nach 3 Minuten, auf einer anderen Platte im Umkreis von 1/2 cm nach 4 Minuten zugrunde gingen, wie die nachträgliche Bebrütung bei 37° C erkennen ließ. Weiter zeigten mit 5 ccm Agar übergossene Colibacillen (aus einer stärkeren Aufschwemmung)

nach 5' im Umkreis von 1/4 cm,
nach 10' im Umkreis von 1/2 cm kein Wachstum mehr.

Eine geringe Tiefenwirkung des Gases ist demnach vorhanden. Wahrscheinlich werden die Verhältnisse am erkrankten, oberflächlich liegenden Gewebe ebenso liegen, da die Beschaffenheit des Agarnährbodens derjenigen der Weichteilgewebe nahesteht.

Was nun die Sterilisationsverhältnisse in der Mundhöhle selbst anbetrifft, so wurde die Wirkung des Gases an einer umschriebenen Stelle des Zahnfleisches und an dem am Zahnhals haftenden Belag geprüft. Das Gas wirkte an den betreffenden Stellen immer nur kurze Zeit ein (0,5'), um zwischendurch diese Stellen mit steriler Kochsolzlösung anfeuchten zu können. Kontrollabstriche mittels steriler feuchter Wattefäden wurden an entsprechenden unbehandelten Stellen gemacht. Die von den behandelten Stellen nach bestimmter Gaseinwirkungsdauer gemachten Abimpfungen trübten Bouillon nicht mehr, ebenso zeigten die aus dieser Bouillon auf Platten vorgenommenen Ausstriche kein Wachstum mehr. Diese Versuche ließen erkennen, daß es gelang, die Schleimhaut nach 1—1,5 Minuten und die Zahnstellen, die von weichem Belag in dünner Schicht bedeckt waren, nach 2 Minuten zu sterilisieren.

Faßt man die Ergebnisse der bisherigen Versuche kurz zusammen, so lagen die **Sterilisationsverhältnisse am günstigsten** erstens bei Keimen, die in **physiologischer Kochsalzlösung** suspendiert waren und zweitens bei **oberflächlich liegenden Keimen,** die man mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtete; organische Stoffe an Stelle von phys. NaCL-Lösung verschlechterten die Ozonwirkung in steigendem Maße, je größer die Dichte der kolloidalen, organischen Stoffe war. Unter allen Keimen besassen die Sporen naturgemäß die größte Widerstandsfähigkeit.

4. Versuchsanordnung.

Ganz andere Verhältnisse im Vergleich zu denjenigen der letzten Versuchsanordnung, liegen im Zahne vor. Das Dentingewebe, welches hier hauptsächlich in Frage kommt, steht dem Knochengewebe sehr nahe und ist infolge seiner großen Dichte ärmer an Feuchtigkeit als die Weichteilgewebe. Das Gas kann aber letzten Endes genau wie die Bakterien nur auf dem Wege über die mikroskopisch feinen Detinkanälchen und ihre Seitenkanälchen in diese dichte Substanz vordringen. Solche Verhältnisse bieten dem Zugang des Gases natürlich Schwierigkeiten, die in anderer Hinsicht noch dadurch vermehrt werden, daß der Inhalt der Kanälchen, die im erkrankten Zahn mehr oder weniger mit zersetzten oder unzersetzten organischen Stoffen angefüllt sind, obendrein auch noch die Wirkung des nur langsam eindringenden Gases abzuschwächen vermag. So ist es erklärlich, daß aus den vorher mit Ozon behandelten und nachher zerstampften Zahnwurzeln noch Keime zur Entwicklung kamen, und man wird niemals einen endgültigen Erfolg in mehreren Minuten erwarten dürfen. Wohl konnte eine Entkeimung der benutzten Zahnwurzelkanäle erreicht werden, die der tieferen Dentinschichten aber nicht ganz.

Als Untersuchungsobjekte dienten folgende einwurzelige Zähne mit nur einem Wurzelkanal:

1. alte, noch besonders infizierte Zahnwurzeln mit erweitertem Wurzelkanal,

2. frische gangränöse Zahnwurzeln mit erweitertem Wurzelkanal,

3. frische gangränöse Zahnwurzeln mit natürlich weitem Wurzelkanal.

Das Erweitern der Kanäle geschah mit einem feinen Rosenbohrer. Hierdurch erleichterte man sich das Be-

impfen der Kanäle und das Einführen der Ozonkanüle in den Kanal. Die Sterilität der Außenfläche aller Zahnwurzeln konnte erzielt werden, wenn jede Wurzel äußerlich 2—3 mal mit Alkohol bestrichen und letzterer nach jedesmaligem Bestreichen wieder abgebrannt wurde. Die Wurzeln blieben, nachdem sie in Bouillon gebracht waren, 24—48 Stunden oder wenn erforderlich, noch länger im Brutschrank.

Bevor das Gas durch eine Glaskanüle von der Feinheit einer Spritzenkanüle in den Zahnkanal einströmte, wurden zur Infektion der Kanäle verschiedene Vorbereitungen getroffen.

Erstens behandelten wir alte Zahnwurzeln, deren erweiterte Kanäle vermittels Wattefäden, die in eine Staphylococcenbouillon gebracht waren, infiziert waren. Vor dem Einleiten des Gases kommen die Wurzeln auf kurze Zeit in eine Petrischale. Nach der Behandlung und dem nachfolgenden Bebrüten wurden die Keime mit Hilfe des einfachen Bouillon-Züchtungsverfahrens nachgewiesen.

Ergebnis: Von 15 Zahnwurzeln zeigten

2 nach 7 minutenlanger Ozonbehandlung
9 nach 8 minutenlanger Ozonbehandlung
4 nach 9—10 minutenlanger Ozonbehandlung

und 1—2 tägigem Bebrüten kein Wachstum in Bouillon.

Um das Vordringen der Keime ins Dentin besser zu ermöglichen, blieb in einer 2. Versuchsserie entweder eine Staphylococcenaufschwemmung längere Zeit in den Wurzelkanälen stehen oder die Zahnwurzeln kamen für kurze Zeit in derartige Aufschwemmungen, worauf sie vor der Behandlung in einer Petrischale bis zum Eintrocknen der Flüssigkeit im Zahnkanal liegen blieben. Von 15 derartig infizierten Zahnwurzeln konnten die meisten innerhalb von 8—10 Minuten erfolgreich mit Ozon entkeimt werden.

Bei beiden Versuchsanordnungen war der Wurzelkanal verhältnismäßig trocken. Das kurze Verweilen der Wurzeln in der Petrischale bis zum Eintrocknen des Kanalinhaltes hatte sich in einer Herabsetzung der Ozonwirkung bemerkbar gemacht, sodaß das Gas mindestens 8 Minuten lang eingeleitet werden mußte, um einen Erfolg feststellen zu können. Weitere Versuche in dieser Richtung zeigten, daß bei stärker infizierten und reichlich trockenen Wurzelkanälen erst erheblich später eine deutlich sichtbare Besserung eintrat.

In einer 3. Versuchsreihe wurden frisch extrahierte, meist gangränöse Zähne mit annähernd natürlichem Feuchtigkeitsgehalt zur Ozonbehandlung herangezogen. Außerdem wurde ein Teil dieser Wurzeln, nachdem ihr Kanal mit einem feinen Rosenbohrer nur wenig erweitert worden war, mit gangränösem Material infiziert. Dadurch sollte die Keimzahl, welche durch das Ausräumen und Erweitern des Kanales sich vermindert hatte und zweitens die ev. schon begonnene Eintrocknung des Kanales wieder ausgeglichen werden.

Ergebnis: Von 12 Wurzeln zeigten 3 nach 5 minutenlanger Behandlung und 9 nach 6 minutenlanger Behandlung und 1—2 tägiger Bebrütung kein Wachstum mehr in Bouillon.

Außerdem wurden die Kanäle weiterer 15 frisch extrahierter Zähne mit erweitertem Wurzelkanal nicht mehr besonders infiziert, sondern in Abständen von 2 Minuten mit steriler Kochsalzlösung angefeuchtet. Mit dieser Befeuchtung war eine deutliche Besserung der Resultate zu erzielen, die sich schon nach einer Gaseinwirkung durchschnittlich von 5 Minuten zeigte.

Ergebnis: Von 15 Zähnen zeigten 10 nach 5 minutenlanger
3 nach 4 minutenlanger
2 nach 6 minutenlanger
Behandlung und 1—3 tägigem Bebrüten bei 37° kein Wachstum in Bouillon mehr.

Bei Prüfung der Sterilisationsverhältnisse am Zahn war in vielen Fällen nach 48 Stunden in der Bouillon noch nichts gewachsen. Ein Abstrich, den man in wenigen derartigen Fällen gleich nach der Behandlung mit sterilem feuchten Wattefaden aus dem Kanal machte, zeigte in Bouillon kein Wachstum an, dagegen zeigte ein Ausstrich, der nach 48 Stunden wiederholt wurde und zwar aus dem Kanal derselben Wurzel, die während der Zeit in klarer Bouillon gelegen hatte, ein Wachstum an. Dieses Ergebnis legt die Annahme nahe, daß Ozon in die Detinkanälchen nicht einzudringen vermag und daß die darinliegenden Keime nachträglich wieder in den Kanal eingewandert sein müssen. Gestützt wird diese Annahme noch dadurch, daß vier Wurzeln, die nach 2—4 tägigem Bebrüten einer vollständig klaren Bouillon entnommen wurden, nach Zerstampfen in frische Bouillon gebracht wieder zu einem Wachstum von Keimen Veranlassung gaben.

Da eine Erweiterung der Wurzelkanäle am Zahn im Munde sich nur in beschränktem Maße durchführen läßt, so versuchten wir in einer 4. Versuchsserie am Phantom den natürlichen Verhältnissen näher zu kommen, indem wir in den folgenden Versuchen solche Zähne untersuchten, deren Kanäle nur ausgeräumt, aber nicht erweitert zu werden brauchten, um das Einführen der Gaskanüle zu ermöglichen. Die Behandlung dauerte 4—6 Minuten und in Abständen von 2 Minuten wurde die Gaszufuhr unterbrochen und der Kanal mit steriler Kochsalzlösung wieder befeuchtet. Die Wurzeln kamen nach der Behandlung in Traubenzuckerbouillon.

Ergebnis: Von 14 Zahnwurzeln zeigten 4 schon nach einem Tage kein Wachstum mehr, während von den anderen 10 Wurzeln

3 nach 2 Tagen,
4 nach 3 Tagen und
1 nach 4 Tagen erst ein Bakterienwachstum erkennen ließen. In den letzten 2 Fällen war dieses nach 4 Tagen noch nicht möglich, sondern dieses gelang erst, nachdem die zerstampften Wurzeln in Bouillon gebracht waren.

Die in den letzten Versuchen an frisch extrahierten Wurzeln angewandte unterbrochene intermittierende Behandlungsart mit Ozonluft erwies sich insofern als günstig, als man zwischendurch die Kanäle wieder anfeuchten konnte, was in wesentlich kürzerer Zeit zu günstigen Resultaten führte, sodaß die Behandlungszeit von 8—10 auf 4—6 Minuten verkürzt werden konnte.

Wie aus Versuchen am Zahn und Zahnfleisch in situ hervorging, erwies sich die Unterbrechung der Gaszufuhr auch als notwendig, da hierdurch eine übermäßige Ozonansammlung in der Mundhöhle zu verhüten war. Die zu fürchtende Einatmung des Gases kann noch mehr verhindert werden durch Anbringen einer ozonbeständigen Gummiplatte, die den zu behandelnden Teil der Mundhöhle vom Rachenraum trennt. Ohne Ergreifung jeder Schutzmaßnahme trat bei ununterbrochener Zuleitung des Gases auf einen Frontzahn die Reizwirkung des Ozons auf den Kehlkopf schon nach 1,5—2 Minuten ein und machte sich durch Hustenanfälle und Atembeschwerden bemerkbar. Wenn nun nach jeder halben Minute die Gaszufuhr auf kurze Zeit unterbrochen wurde, trat die Reizwirkung nicht so früh ein. Einige Versuche zeigten, daß man das Gas

4—6 mal, mit Unterbrechungen von 0,5—1 Minute, 0,5 minutenlang auf die Zahnhalsstelle eines Molaren leiten konnte, ohne befürchten zu müssen, daß durch einen Hustenanfall die Behandlung unterbrochen werden mußte. Bei längerer Behandlung stellten sich jedoch wieder Hustenanfälle ein. Die Gesamtbehandlung darf daher nicht zu lange dauern und die Abstände zwischen den einzelnen Behandlungen müssen groß genug sein, um die Reizwirkung herabzusetzen. Diese Zeiten reichten aber meist schon aus, um bei Sterilisierungsversuchen zu günstigen Ergebnissen zu kommen, wovon wir uns in praktischen Versuchen überzeugen konnten. Aber trotzdem möchten wir doch nicht annehmen, daß die Desinfektion mit Ozongas für die zahnärztliche Praxis in größerem Umfange in Frage kommt, da doch immerhin mit einer schädigenden Wirkung des Ozongases gerechnet werden muß, wenn man mit Sicherheit wirksame keimtötende Dosen zur Anwendung bringen will. Diese Ozondesinfektion käme u. E. nur dann in Frage, wenn es sich um eine Desinfektion gut zugänglicher Flächen handelt, wo die Anwendung anderer Desinfektionsmittel aus irgendwelchen Contraindicationen nicht in Frage kommt.

Schließlich schlugen Versuche fehl, die die bleichende Wirkung des Ozons an verfärbten Zahnstellen verfolgen sollten. Trotz mehrere Minuten dauernder Behandlung mit Ozongas war auch nicht die kleinste Veränderung am verfärbten Zahn festzustellen.

Zusammenfassung.

Es wurde eine Kleinapparatur (Ozonisator von Siemens & Halske) zur Erzeugung von Ozon für zahnärztliche Zwecke mit folgenden Ergebnissen geprüft:

1. Die Vorversuche mit Keimaufschwemmungen ergaben, daß die Entkeimung umso schneller eintrat, je geringer die organischen Substanzen im Suspensionsmittel waren. 2 ccm der Kochsalzkeimsuspensionen nicht sporenbildender Keime (200 000 — 700 000 pro ccm) konnten innerhalb von 0,5—1,5 Minuten und 2 ccm der Bouillonkeimsuspensionen mit derselben Keimzahl innerhalb von 1,5—3 Minuten sterilisiert werden. Heubacillen- und Milzbrandsporen aus gleich großen Kochsalzkeimsuspensionen mit der Keimzahl 5000—7500 pro ccm gingen nach 1,5

bezw. 3 Minuten, die der Bouillonkeimsuspensionen nach 6 bezw. 11 Minuten nicht mehr an.

2. Ungünstiger fielen die Ergebnisse der Versuche an flächenhaft aufgebrachten Keimen aus. Es wurden 7000 bis 24 000 nicht sporenbildende Keime innerhalb eines Kreises mit dem Durchmesser 6,5 cm nach 3—5 Minuten vernichtet. Milzbrand- und Heubacillensporen, von denen sich 1000—2000 auf gleich großer Fläche befanden, keimten nach 5—7 minutenlanger Behandlung nicht mehr aus.

3. Die desinfizierende Kraft des Ozons kam bei Ueberschichtung der Keime mit organischen Stoffen erst spät zur Geltung. Im Vergleich zu der Ueberschichtung mit Kochsalzlösung erforderte die Ueberschichtung

mit Hühnereiweiß eine 6—7 mal längere,
mit Blutserum eine 5—6 mal längere,
mit Sputum eine 3—4 mal längere

Ozoneinwirkung. Die Tiefenwirkung an dichteren kolloidalen Schutzstoffen, wie z. B. bei Agar, war noch geringer.

4. Am Zahnfleisch und Zahnhals, der von wenig Belag bedeckt war, konnte nach 1—2 Minuten nachweislich nur an der Oberfläche Sterilität erzielt werden.

5. In den Zahnwurzeln konnten die Keime an der Kanalwandung und wohl auch die etwas tieferliegenden Keime in 4—6 Minuten vernichtet werden, wenn die Kanäle zwischendurch mehrmals mit steriler Kochsalzlösung angefeuchtet wurden.

6. Die Reizung der Kehlkopfschleimhaut spielte keine so große Rolle mehr, wenn die Gaszufuhr jedesmal nach 0,5 Minuten auf kürzere Zeit unterbrochen wurde.

Für die Zwecke der Zahnheilkunde fände der hier beschriebene Apparat verschiedene Verwendungsmöglichkeiten. An erster Stelle stände die Behandlung nicht zu stark infizierter Zahnwurzelkanäle und weiter käme die Behandlung von Zahnfleischrandentzündungen, Schleimhautstellen und infizierten Extraktionswunden in Frage. Die Dauer der Behandlung hätte sich nach den örtlichen Verhältnissen des erkrankten Gewebes zu richten. Infizierte Extraktionswunden, die bei der Behandlung leicht mit Blut überschwemmt werden, und andere mehr in der Tiefe sich ausdehnende Krankheitsherde bakterieller Ursache sind sämtlich eiweißreicher Natur und bieten große Schwierigkeiten. Ihre Absonderungen lassen sich schlechter entfernen oder schlechter

mit geeigneten Flüssigkeiten verdünnen, als die Absonderungen flacher, weniger leicht blutender, infizierter Wunden, wie Operationswunden und dergl.

Bei der Verwendung des Apparates in der Zahnheilkunde müßte die Gefahr, welche Ozon für den Atmungsapparat in sich birgt, ausgeschaltet werden, um dadurch Schädigungen und Belästigungen der Patienten bzw. des Zahnarztes zu vermeiden. Das Gas wird dann gefährlich, wenn es von der Mundhöhle aus in die oberen Luftwege gelangt. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß die in die Luft entweichenden Mengen auf die Dauer auch für den Zahnarzt von Nachteil sind. Bei Durchführung der vorerwähnten Schutzmaßnahmen ist die Reizwirkung auf die Kehlkopfschleimhaut aber auch nicht ganz auszuschalten. Man muß daher verlangen, daß das Ozon in kurzer Zeit eine große Wirkung entfaltet. An manchen Stellen, wie an der Schleimhaut, hat es zwar eine recht gute Wirkung bewiesen, die sich aber nur auf die Oberfläche beschränkte, während seine Tiefenwirkung erst später eintrat. Im letzten Falle, in dem der Erfolg von der Tiefenwirkung abhängig wäre, würde mit einer längeren Behandlungszeit zu rechnen sein, die zweckmäßig auf mehrere Sitzungen verteilt würde, um mit größerer Sicherheit die Reizwirkung auszuschalten. Ob man aber mit einer zweiseitigen Behandlung von mehreren Minuten Dauer zu einem befriedigenden Resultat kommt, ist fraglich und da es andererseits auch unmöglich ist, Ozon als gasförmigen Stoff zu speichern, wie es im Falle der Wurzelbehandlung flüssige desinfizierende Mittel erlauben, wird Ozon von letzteren, was vor allem die Zeitersparnis angeht, übertroffen. Solange man aber das Gas, nachdem es zur Wirkung gekommen ist, nicht unschädlich machen kann, läßt sich die Anwendung dieses Verfahrens in der Zahnheilkunde nicht rechtfertigen.

Zum Schluß möchte ich Herrn Prof. Dr. Jötten, Direktor des Hygienischen Instituts der Westf. Wilhelms-Universität Münster, meinen verbindlichsten Dank aussprechen für die Anregung zu dieser Arbeit. Ebenfalls bin ich Herrn Privatdoz. Dr. Sartorius für die freundliche Unterstützung bei meiner Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Lebenslauf.

Am 8. X. 06. wurde ich als Sohn des Lokomotivführers H. Reinhardt in Essen-Ruhr geboren. Nach Absolvierung der Humboldt - Oberrealschule, Essen, begann ich mein zahnärztliches Studium an der Westf. Wilhelms-Universität in Münster i. W. und beendete es mit der Erlangung der Approbation als Zahnarzt.

Literaturverzeichnis.

1) **Ohlmüller:** Ueber die Einwirkung des Ozons auf Bakterien. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. VIII, S. 229.

2) **Weyl:** Keimfreies Trinkwasser mittels Ozon. Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. XXVI, S. 15.

3) **Schüder u. Proskauer:** Ueber die Abtötung pathogener Bakterien im Wasser nach dem System Siemens & Halske. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 41, S. 241/42.

4) **Erlwein:** Ozonwasserwerk Wiesbaden - Schierstein. Gesundheit 1902, Nr. 19, nach Daske unter Nr. 7.

5) — — Ozonwasserwerk Paderborn. Gesundheit 1902, Nr. 23, nach Daske unter Nr. 7.

5) 8) 9) **Ohlmüller u. Prall:** Die Behandlung des Trinkwassers mit Ozon. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XVIII, S. 417, 425 u. 424.

6) **Globig:** Referat im Zentralbl. f. d. gesamte Hygiene, 1922, Bd. I, S. 10.
Co-operative studies of ozone for air purification (gemeinschaftliche Untersuchungen von Ozon zur Luftreinigung). Engineer. news-rec. Bd. 88, Nr. 4, S. 147, 1922.

7) **Daske:** Die Reinigung des Trinkwassers durch Ozon. Dtsch. Vierteljahresschrift für öffentl. Gesundheitspflege, Bd. 41, H. 3, S. 2.